

COMMUNICATIONS FROM THE DEPARTMENT OF ANATOMY
UNIVERSITY OF LUND, SWEDEN
No 1 · 1968

FÖREKOMST AV
BIOGENA MONOAMINER I
ENDOKRINA PANCREAS

AV
LENNART CEGRELL

DEPARTMENT OF ANATOMY
UNIVERSITY OF LUND
SWEDEN

1960



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545309_0008

Från Institutionen för Anatomi och Histologi
Lunds Universitet

FÖREKOMST AV BIOGENA MONOAMINER I ENDOKRINA PANCREAS

AV

LENNART CEGRELL

Lund maj 1968

Från Institutionen för Anatomi och Histologi
Lunds Universitet

FÖREKÖMST AV DIVERGA HÖRNINGAR I EMBRYONAL FASEN

AV

LENNART CEDERHJELM



Lund maj 1958

Till grund för denna sammanfattning ligger följande artiklar:

- I Monoamine-containing cells in the fetal and newborn guinea-pig pancreas. Life Sciences 1967. 6. 1647-1652.
- II Dopamine and 5-hydroxytryptamine in the guinea-pig pancreas. Life Sciences 1967. 6. 2483-2489. (Tillsammans med B. Falck och A.-M. Rosengren).
- III Dopamine in the pancreas of albinic and pigmented newborn guinea-pigs. Life Sciences 1967. 6. 2491-2495.
- IV Monoamines in the pig pancreas with special reference to the endocrine part. Acta physiol. scand. 1968. Suppl. 314. (Tillsammans med B. Falck och E. Rosengren).
- V Catecholamines in the pancreas of human fetuses. Acta physiol. scand. 1968. Suppl. 314.
- VI Adrenergic nerves and monoamine-containing cells in the mammalian endocrine pancreas. A comparative study. Acta physiol. scand. 1968. Suppl. 314.
- VII The development of monoamine containing cells in guinea-pig pancreas. Acta physiol. scand. 1968. Suppl. 314. (Tillsammans med B. Falck).
- VIII Uptake of L-dopa in the pancreatic islets of albino mice. Acta. physiol. scand. 1968. Suppl. 314.

Arbetena refereras i texten med deras respektive romerska siffror.

De Langerhanska cellöarna i pancreas har, alltsedan det blivit känt att de bildar åtminstone två hormoner vilka påverkar kroppens kolhydratmetabolism, blivit föremål för en rad histologiska, biokemiska och fysiologiska undersökningar. Deras roll i diabetespatogenesen samt de mekanismer vilka reglerar deras syntes, upplagring och frisättning av hormonen, är emellertid fortfarande föga kända. Under de senaste åren har ett ökande intresse inriktats på monoamimekanismer, som kan påverka endokrina pancreas' hormonproduktion. Sålunda har bl.a. Porte et al. (1966) visat att adrenalin kan inhibera insulinsekretionen hos människa, och Wong et al. (1967) att adrenalin, noredrenalin och dopamin inhiberar insulinsekretionen från kaninpancreas in vitro. Loubatieres (1965) fann efter infusion av adrenalin i pancreas arteriella tillflöde hos hund och råtta en skada på de insulinproducerande B-cellerna. När den Falck-Hillarpska fluorescensmetoden för påvisandet av vissa biogena monoaminer på cellulär nivå applicerades på pancreas fann Falck och Hellman (1963) förekomst av adrenerga nerver samt en cellulär upplagring av aminer i Langerhans' öar hos vissa species. Syftet med den här presenterade undersökningen har varit att histokemiskt kartlägga förekomsten av adrenerga nerver och monoamin-innehållande celler i endokrina pancreas, samt att kemiskt och mikrospektrografiskt identifiera aminerna. Dessa basala fakta är en förutsättning för att i fortsatta undersökningar utreda aminernas roll i hormonproduktionen.

MATERIAL och METODBESKRIVNING

Det undersökta materialet består av pancreasvävnad från homofoster, cynomolgusapa, svin, hund, katt, kanin, marsvin, guldhamster, råtta och mus. Små vävnadsbitar har behandlats enligt den Falck-Hillarpska fluorescensmetoden för påvisandet av vissa biogena monoaminer på cellulär nivå (Falck 1962, Falck et al. 1962, Corrodi och Hillarp

1963, 1964, Corrodi och Jonsson 1967; för detaljerad metodbeskrivning se Falck och Owman 1965). De biogena monoaminer som kan påvisas är 5-hydroxytryptamin samt de tre katekolaminerna dopamin, noradrenalin och adrenalin. Metoden bygger på att dessa substanser i nästan torr miljö kan kondensera med formaldehyd varvid intensivt fluorescerande derivat bildas. Under de använda optiska betingelserna emitterar katekolaminernas fluorofoer ett grönt och 5-hydroxytryptamins fluorofoer ett gult ljus. De olika aminfluorofoererna har differentierats genom mikrospektrografiska analyser (enligt Caspersson et al. 1966 och Björklund et al. 1968).

Spektrofluorimetriska analyser (Bertler et al. 1958b; Bertler 1961) på pancreas avseende kvantitativa bestämningar av monoaminerna har utförts på homofoster, svin och marsvin. Därjämte har papperskromatografiska analyser (Bertler et al. 1958a) utförts för att dokumentera närvaron av dopamin i svin- och marsvinspancreas.

RESULTAT och SLUTSATSER

Adrenerga nerver.

Distributionen av noradrenalin-innehållande adrenerga nerver i endokrina pancreas är mycket varierande mellan olika species. Sålunda innehåller de Langerhanska öarna hos guldhamster (VI) rikligt med adrenerga nerver, vilka bildar perivaskulära plexa eller löper mellan de endokrina cellerna utan säker kontakt med kärl. Rikligt med adrenerga nerver, dock färre än hos guldhamster, återfinnes i öarna hos hund och katt (VI). Här löper de runt små lobuli av endokrina celler, ibland i intim kontakt med kärl.

Hos övriga species, som ingår i denna undersökning, förekommer adrenerga nerver i endokrina pancreas endast mycket sparsamt (IV - VI). De kemiska analyserna av noradrenalin-koncentrationen i pancreas visar att denna varierar inom relativt snäva gränser hos homofoster (IV), marsvin (II - III, VII) och svin (IV) samt hos hund och katt (opublicerade resultat). Likaså är distributionen av de

adrenerga nerverna i den exokrina delen ensartad hos de olika species (jfr. Alm et al. 1967). Sålunda avspeglar sig variationerna i antalet adrenerga nerver i endokrina pancreas hos olika species ej i koncentrationen av noradrenalin i pancreas, utan maskeras utav de exokrina nervernas noradrenalininnehåll.

Monoamin-innehållande celler i marsvinspancreas (I - III, VII).

Av de djur, som ingår, är marsvin det mest studerade i denna undersökning. Under den perinatale perioden innehåller marsvinspancreas rikligt med celler i vilka histokemiskt påvisbara mängder av monoaminer finns upplagrade. Dessa fluorescerande celler utgör den dominerande populationen i de Langerhanska öarna men förekommer dessutom rikligt som enskilda celler insprängda emellan exokrina celler. De kan delas upp i tre grupper med avseende på fluorescensfärg: klart gröna celler, klart gula celler och celler som emitterar ett ljus av en mera svårdefinierbar färg varierande mellan grönt och gult. Mikrospektrografiskt visar de förstnämnda cellerna ett emissionsspektrum med maximum vid 470 m μ typiskt för katekolaminer medan de gula cellernas emissionskurva överensstämmer med 5-hydroxytryptaminets med ett maximum vid 525 m μ . Emissionsspektra från den sistnämnda cellgruppen företer å andra sidan maxima varierande mellan 470 och 525 m μ . Kemiska analyser visar att marsvinspancreas under denna period innehåller, förutom noradrenalin, ofta höga koncentrationer av dopamin och 5-hydroxytryptamin. En korrelation av de kemiska, histokemiska och mikrospektrografiska resultaten tycks inte lämna något tvivel om att dopamin är upplagrat i de grönfluorescerande endokrina cellerna och 5-hydroxytryptamin i de gulfluorescerande cellerna. De celler, vars fluorescensfärg varierar mellan gult och grönt, tycks innehålla både dopamin och 5-hydroxytryptamin i inbördes varierande koncentrationer. Ett sådant förhållande har tidigare icke registrerats i något cellsystem.

Studier på marsvinsfoster från olika utvecklingsstadier visar att celler i pancreasanlaget innehållande histokemiskt påvisbara mängder av monoamin kan iakttagas från omkring den 35 fosterdagen. Om däremot L-dopa tillföres gravida marsvinshonor uppträder en kraftig fluorescens i de endokrina pancreascellerna hos fosterna, och dessa celler kan därigenom följas i fosterutvecklingen ned till 18:e fosterdagen.

Under den postnatala perioden sker en relativt snabb reduktion av dopaminkoncentrationen i pancreas, parallellt med en minskning av den gröna cellulära fluorescensen. De fluorescerande öceller som kvarstår i adult stadium uppvisar samma varierande emissionsspektra som påvisats hos vissa celler i foster och nyfödda marsvin, vilket tyder på en samtidig upplagring av dopamin och 5-hydroxytryptamin.

Monoamine-innehållande celler i pancreas hos övriga species studerade i denna undersökning.

I pancreas från svin (IV) innehåller flertalet öceller samt singulära celler utspridda i exokrina parenchymet histokemiskt påvisbara mängder av amin, och kemiska analyser har visat förekomst av dopamin och 5-hydroxytryptamin i svinpancreas. Vissa endokrina celler uppvisar fluorescenskaraktistika typiska för dopamin medan celler med 5-hydroxytryptaminegenskaper finns framför allt som singulära celler i exokrina parenchymet. Flertalet av öcellerna emitterar ett ljus med emissionsmaxima varierande mellan 470 och 525 m μ , vilket kan innebära att de analogt med förhållandet hos marsvin innehåller såväl dopamin som 5-hydroxytryptamin i varierande proportioner. Det kan emellertid ej uteslutas att dessa celler innehåller en eller flera okända substanser som kan kondensera med formaldehyd till fluorescerande derivat.

Fluorescerande endokrina celler med liknande variationer i emissionsspektra finns hos hund och katt (VI). Därjämte

finns klart grönfluorescerande celler med samma karakteristika som dopaminfluoroforen hos dessa species; sådana celler har dessutom påvisats i pancreas från homofoster (V) och ung pigmenterad kanin och mus (VI). Monoamin-innehållande endokrina celler har hittills ej iakttagits hos råttor, apa och hamster (VI).

En upplagring av dopamin i perifera vävnader hos mammalia har tidigare fastställts endast i några få cellsystem. Av dessa arbete (I - VII) framgår att hos de species, som upplagrar histokemiskt påvisbara mängder av monoamin i de endokrina cellerna, är dopamin en ofta förekommande amin. Dessutom tycks i vissa fall (marsvin (III, VII), kanin och mus (VI)) unga pigmenterade djur innehålla en högre koncentration dopamin i pancreas än albinotiska djur. Denna skillnad framträder även om pigmenterade och albinotiska djur tillhör samma kull (VII).

Identifiering av de monoamine-innehållande cellerna:

För identifiering av de fluorescerande cellerna har jämförts tre mikrofotografier av ett och samma snitt vilka visar 1) de monoamin-innehållande cellerna 2) de silverpositiva A_1 -cellerna (Hellman och Hellerström 1960) och 3) de aldehyd-fuchsin positiva B-cellerna. I en del försök har silverimpregneringen utelämnats och i andra har den ersatts med Grimelius' silvernitratmetod (Grimelius 1968) för påvisning av A_2 -celler. Härvid har framkommit att amin finns både i A_2 - och B-cellerne hos svin (IV) samt marsvin under perinatalperioden (I, VII) men enbart i B-cellerna hos adulta marsvin (VII) och homofoster (V). I endokrina pancreas från katt och ung pigmenterad kanin och mus har amindepån lokaliserats till A-cellerne (VI); hos hund synes den vara förlagd till A_2 -cellerna (VI). Fluorescerande celler, vilka förekommer singulärt utspridda i det exokrina parenchymet, har iakttagits hos svin (IV), marsvin (I - III, VII), kanin, hund och katt (VI). Sannolikt utgör de till viss del singulära öceller, men bland dem kan finnas celler, vars natur ännu är okänd. Dessa singulära celler har hos hund en fördelning som på-

minner om de av Bencosme och Liepa (1955) beskrivna "x-cellerna".

Upptag av L-dopa i normalt icke-fluorescerande öceller.

Avsaknaden av histokemiskt påvisbar monoamin i endokrina pancreas-celler utesluter inte nödvändigtvis att monoaminmekanismer opererar i dessa celler. Försök på adulta albinonöss (VIII) har visat att öcellerna tar upp L-dopa (men inte D-dopa), som dekarboxyleras, upplagras i cytoplasman och därefter nedbrytes av monoaminoxidas. Liknande mekanismer tycks också finnas hos råtta (VIII) och i A-cellerna hos adulta marsvin (VII).

Förekomsten av metaboliska system för biogena monoaminer antyder att dessa celler arbetar med sådana substanser, även om dessa möjligen är av typer som ej kan påvisas med den applicerade histokemiska metoden.

SAMMANFATTNING

Denna undersökning har visat följande:

- 1) Biogena monoaminer - biologiskt högaktiva substanser - upplagras i endokrina pancreas hos många species.
- 2) Stora speciesvariationer förekommer både vad gäller antalet adrenerga nerver i endokrina pancreas och monoaminförekomst i de endokrina cellerna.
- 3) Endokrina pancreas utgör hos vissa species en tidigare okänd perifer depå för dopamin.
- 4) Två monoaminer - dopamin och 5-hydroxytryptamin - synes upplagras samtidigt i vissa endokrina celler.
- 5) Hos vissa species upplagrar unga pigmenterade djur högre koncentration av dopamin i de endokrina cellerna än adulta och albinotiska unga djur.

6) Även när de endokrina pancreascellerna ej innehåller histokemiskt påvisbara mängder av monoamin kan monoaminerga mekanismer arbeta i dessa celler.

REFERENSER

- ALM, P., CEGRELL, L., EHINGER, B. and FALCK, E. (1967) Remarkable adrenergic nerves in the exocrine pancreas. *Z. Zellforsch.* 83: 178-186.
- BENDISYE, S.A. and LIEPA, E. (1955) Regional differences of the pancreatic islet. *Endocrinology* 57: 588-593.
- BERTLER, Å. (1961) Effect of reserpine on the storage of catecholamines in brain and other tissues. *Acta physiol. scand.* 51: 75-83.
- BERTLER, Å., CARLSSON, A. and ROSENGREN, E. (1958a) A method for the fluorimetric determination of adrenaline and noradrenaline in tissues. *Acta physiol. scand.* 44: 273-292.
- BERTLER, Å., CARLSSON, A., ROSENGREN, E. and WALDECK, B. (1958b) A method for the fluorimetric determination of adrenaline, noradrenaline and dopamine in tissues. *Kungl. Fysiogr. Sällsk. Lund Förh.* 28: 121-123.
- BJÖRKLUND, Å., EHINGER, B. and FALCK, E. (1968) A method for differentiating dopamine from noradrenaline in tissue sections by microspectrofluorometry. *J. Histochem. Cytochem.* In press.
- CASPERSSON, T., HILLARP, N.-Å. and RITZÉN, M. (1966) Fluorescence microspectrophotometry of cellular catecholamines and 5-hydroxytryptamine. *Experimental Cell Research* 42: 415-428.
- CORRODI, H. and HILLARP, N.-Å. (1963) Fluoreszenzmethoden zur histochemischen Sichtbarmachung von Monoaminen. 1. Identifizierung der fluoreszierenden Produkte aus Modellversuchen mit 6,7-Dimethoxyisochinolinderivaten und Formaldehyd. *Helv. chim. Acta* 46: 2425-2430.
- CORRODI, H. and HILLARP, N.-Å. (1964) Fluoreszenzmethoden zur histochemischen Sichtbarmachung von Monoaminen. 2. Identifizierung des fluoreszierenden Produktes aus Dopamin und Formaldehyd. *Helv. chim. Acta* 47: 911-918.

- CORRODI, H. and JONSSON, G. (1967) The formaldehyd fluorescence method for histochemical demonstration of biogenic monoamines. *J. Histochem. Cytochem.* 15: 65-78.
- FALCK, B. (1962) Observations on the possibilities of the cellular localization of monoamines by a fluorescence method. *Acta physiol. scand* 56: Suppl. 197.
- FALCK, B. and HELLMAN, B. (1963) Evidence for the presence of biogenic amines in pancreatic islets. *Experientia* 19: 139-140.
- FALCK, B., HILLARP, N.-Å., THIEME, G. and TORP, A. (1962) Fluorescence of catechol amines and related compounds condensed with formaldehyde. *J. Histochem. Cytochem.* 10: 348-354.
- FALCK, B. and OWMAN, CH. (1965) A detailed methodological description of the fluorescence method for the cellular demonstration of biogenic monoamines. *Acta Univ. Lund.* II 7: 1-23.
- GRIMELIUS, L. (1968) A silver nitrate stain for the α_2 cells in human pancreatic islets. To be published.
- HELLMAN, B. and HELLERSTRÖM, C. (1960) The islets of Langerhans in ducks and chickens with special reference to the argyrophil reaction. *Z. Zellforsch.* 52: 278-290.
- LOUBATIERES, A. (1965) Sécrétions médullo-surrénales catécholamines et pathogénie du diabète. *Bull. Acad. Roy. Med. Belg.* 5: 815-850.
- PORTE, D. Jr., GRABER, A.L., KUZUYA, T. and WILLIAMS, R.H. (1966) The effect of epinephrine on immunoreactive insulin levels in man. *Journal of Clinical Investigation* 45: 228-236.
- WONG, K.K., SYMCHOWICZ, S., STAUB, M.S. and TABACHNICK, I.I.A. (1967) The in vitro effect of catecholamines, diazoxide and theophylline on insulin release. *Life Sciences* 6: 2285-2291.

